



УДК 636.5.033:631.22.014:637.065

МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ ЛИСТЕРИЙ В ПРОБАХ КУРИНОГО МЯСА И ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ЕСТЕСТВЕННЫМ И ИСКУССТВЕННЫМ ПУТЕМ*

Janejira Fuangpaiboon, директор отдела пищевой безопасности в Юго-восточной Азии

Saengrawee Jongvanich, старший клинический специалист

Panida Pisaisawat, технический эксперт

3M Food Safety, 3M Thailand Limited, Thailand

Bhinyada Ngamwongsatit, кафедра клинической науки и общественного здравоохранения, факультет ветеринарии

Paninee Mongkolsuk, кафедра микробиологии, факультет естественных наук

Soraya Chaturongakul, кафедра микробиологии, факультет естественных наук

Mahidol University, Thailand

Аннотация: В статье приведены результаты исследования, направленного на оценку 3M™ системы молекулярного анализа для обнаружения *Listeria* по сравнению с обычным методом ISO 11290-1. Исследование показало, что 3M™ система молекулярного анализа для обнаружения листерии является надежным и точным методом обнаружения данного микроорганизма по сравнению с ISO 11290-1. При применении данного молекулярного метода сокращается время проведения анализа.

Abstract: The results of the study have been given in the paper on the 3M™ molecular detection system evaluation for *Listeria* detection in comparison with usual ISO 11290-1 method. The study has shown that 3M™ molecular detection system is reliable and accurate method of *Listeria* detection in comparison with ISO 11290-1 method. The rapidness of the 3M method in obtaining the results offers a faster response time.

Ключевые слова: листерии, естественное загрязнение, искусственное загрязнение, 3M™ система молекулярного анализа.

Key Words: *Listeria*, natural contamination, artificial contamination, 3M™ molecular detection system.

Введение

Listeria spp. являются грамположительными факультативными внутриклеточными бактериями, которые могут существовать в различных средах — от почвы до домашних животных [1]. Два патогенных вида *Listeria* spp. — это *Listeria monocytogenes* и *Listeria ivanovii*. *L.monocytogenes* является основной причиной болезни под названием листериоз, встречающейся у человека и животных и более распространенной у групп населения высокого риска, таких как пожилые люди, беременные женщины, новорожденные и пациенты с ослабленным иммунитетом [2]. *Listeria* spp. может выживать и расти в пищевой и агрессивной среде и используется в качестве индикатора присутствия *L. monocytogenes* [3]. Поэтому раннее выявление обоих видов листерий: *L. spp.* и *L. monocytogenes* — может, следовательно, предотвратить вспышки заболевания и отзыв товара.

Listeria spp. часто встречаются в пищевой промышленности. Для выявления обычно используют традиционные методы, однако процесс идентификации и подтверждения может занять до недели. Данное исследование направлено на оценку нового метода — 3M™ системы молекулярного анализа для определения *Listeria* в различных источниках (в образцах, загрязненных естественным и искусственным путем) в сравнении с традиционным методом ISO 11290-1. Оно также призвано показать, что 3M™ система молекулярного анализа является надежным и точным методом обнаружения листерий и сокращает время проведения анализа.

Материалы и методы исследований

Естественно загрязненные образцы. В общей сложности было собрано 60 образцов куриного мяса (в порциях по 25 г) и 60 проб окружа-

ющей среды (с помощью 3M™ губок с легиновым бульоном).

Искусственно загрязненные образцы. Культурами *L. monocytogenes*, *L. innocua* или *L. ivanovii* было обогащены образцы мяса вареной курицы (N=49) и 3M™ губки с легиновым бульоном (N=50) в количестве 200, 20, 2, 0,2, 0,02 и 0,002 КОЕ.

3M™ система молекулярного анализа. Протокол анализа *Listeria* spp. Естественно и искусственно загрязненные образцы проанализированы в двойных количествах. Первичное обогащение выполнено в 3M™ бульоне Фразера 1/2 концентрации. Инкубировали при 37°C.

Традиционный метод. Протокол анализа *Listeria* spp. Естественно и искусственно загрязненные образцы проанализированы в двойных количествах в соответствии с методом ISO. Первичное и вторичное обогащение с добавками

* Исследование было поддержано спонсорским соглашением на исследование между 3M Asia Pacific Pte Ltd и факультетом науки, Университет Mahidol (Бангкок, Тайланд).

выполнены в 3М™ бульоне Фразера 1/2 концентрации и 3М™ бульоне Фразера соответственно и затем пересеяны на чашки с OCLa и PALCAM агарами. *Listeria* spp. подозрительные колонии были перенесены в ВНИ бульон, вид определен методом ПЦР.

Результаты исследований

Предел обнаружения *Listeria* spp. с помощью 3М™ системы молекулярного анализа.

В искусственно загрязненных образцах инокуляты 200, 20, 2, 0,2, 0,02 и 0,002 КОЕ *L. monocytogenes*, *L. innocua* или *L. ivanovii* были внесены в приготовленное куриное мясо или на 3М™ губки с летиновым бульоном. Предел обнаружения 3М™ системой молекулярного анализа был ниже, чем 2 КОЕ.

Результаты обнаружения *Listeria* spp. с использованием 3М™ системы молекулярного анализа и ISO 11290 1 представлены в *таблице 1*, сравнительные данные — в *таблице 2*.

Таблица 1
Обнаружение *Listeria* spp. с помощью 3М™ Системы молекулярного анализа и ISO 11290-1.

Результат	3М™ Система молекулярного анализа	ISO
Положительный результат в курином мясе	5	8
Положительный в пробах окружающей среды	15	13
Положительный в искусственно загрязненных образцах	75	75
Отрицательный результат	124	123
Всего	219	219

Таблица 2

Сравнительные данные.
3М™ Система молекулярного анализа и ISO 11290-1.

Показатель	Куриное Мясо (N=109)	Окружающая среда (N = 110)
Относительная точность, %	92,66	91,82
Относительная специфичность, %	93,65	91,04
Относительная чувствительность, %	91,30	93,02

Выводы

Для обнаружения *Listeria* spp. в курином мясе и пробе окружающей среды (в летиновом бульоне) 3М™ система

молекулярного анализа соответствовала традиционному культуральному методу. Тот факт, что на получение результата с помощью 3М™ Системы молекулярного анализа затрачивается меньшее количество времени, позволяет обеспечивать оперативные мероприятия для устранения загрязнений.

Литература

- Vázquez-Boland J.A., Kuhn M., Berche P., Chakraborty T., Domínguez-Bernal G., Goebel W., González-Zorn B., Wehland J., Kreft J. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants // Clin Microbiol Rev. — 2001. — vol. 14. — P. 584–640.
- Freitag N.E., Port G.C., Miner M.D. *Listeria monocytogenes* — from saprophyte to intracellular pathogen // Nat Rev Microbiol. — 2009. — vol. 7. — P. 623–8.
- Ferreira V., Wiedmann M., Teixeira P., Stasiwicz M.J. *Listeria monocytogenes* persistence in food-associated environments: epidemiology, strain characteristics, and implications for public health // J Food Prot. — 2014. — vol. 77. — P. 150–70.
- Doumith M., Buchrieser C., Glaser P., Jacques C., Martin P. Differentiation of the Major *Listeria monocytogenes* Serovars by Multiplex PCR // J Clin Microbiol. — 2004. — vol. 42. — P. 3819–3822.



- Поместите 20 мкл образца в пробирки для лизиса
- Нагрейте пробирки для лизиса, после этого охладите.
- Поместите 20 мкл образца в пробирки с реагентом.
- Поместите пробирки в погружной планшет.
- Начинаяте анализ.
- Амплификация и обнаружение в режиме реального времени.

Рис. 1. Схема обнаружения листерий. 3М™ Система молекулярного анализа.

Для контактов с авторами
Отдел Пищевой безопасности,
3М Россия и СНГ

Тел.: +7 (495) 784 74 74
www.3MRussia.ru/foodsafety